

凝胶 DNA 回收试剂盒

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

试剂制备

DNA 洗涤液 在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

10 次反应的 **DNA 洗涤液** 应按照标签上的提示添加 100%的乙醇。

50 次反应的 **DNA 洗涤液** 应添加 24 ml 100%的乙醇（26 ml 95%的乙醇）到 6ml 的 **DNA 洗涤液**中。

100 次反应的 **DNA 洗涤液** 应添加 48 ml 100%的乙醇（52 ml 95%的乙醇）到 12ml 的 **DNA 洗涤液**中。

200 次反应的 **DNA 洗涤液** 应添加 96 ml 100%的乙醇（104 ml 95%的乙醇）到 24ml 的 **DNA 洗涤液**中。

特性

- **DNA 纯度** – 在水中洗脱的高质量、纯化的 DNA 尤其适用于 DNA 测序，DNA 连接，限制性内切酶消化，DNA 放射性标记等分子生物学实验。
- **DNA 大小** –50 bp 到 23 kb 之间。
- **DNA 回收率** –一般的，可在 10 μ l 的水中洗脱出 5 μ g 的 DNA。对于从 50bp 到 10kb 的 DNA，回收率为 70-90%，从 11kb 到 23kb 的 DNA，回收率为 50-70%
- **样品来源** –来自 PCR，限制性内切酶消化，质粒抽提，激酶反应，等的 DNA 和在 TAE 或 TBE 缓冲的琼脂糖凝胶切片中的 DNA。

特点

1. 使用了优质溶胶液，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
2. 改进的溶胶液配方,大大提高了缓冲能力和稳定性，即使样品变化很大也能将 PH 缓冲在最佳结合范围内。
3. 快速、方便，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。
4. 此试剂盒中吸附膜吸附DNA的效率很高。但如果切下来的凝胶中含有电泳缓冲液太多，造成溶胶后溶胶液pH偏高，会导致回收率降低。

操作方案

以下离心操作步骤的离心力均在 10,000 - 16,000 x g 之间进行。

1. 使用刀片或手术刀把 DNA 片段从琼脂糖凝胶上切除下来并且移置到 1.5 ml 小型离心管内。

Note: 从凝胶上切下的琼脂糖尽可能的要少。

2. 将 3 倍体积的 **溶胶液** 添加到每 1 体积从凝胶上切下的琼脂糖切块中。

Example: 对于 100 μ l (mg) 的琼脂糖凝胶切块，添加 300 μ l 的 ADB 缓冲液。

3. 在 37-55°C 下温水浴 10 分钟直到凝胶切块完全溶解。

Note: 确定凝胶切块完全溶解是很重要的步骤。在温水浴过程中可辅以温和的搅拌有助于凝胶的溶解。如果 DNA 大小超过 8kb，加热之后需要额外添加等量胶块体积的水。例如：100 μ l (mg) 的琼脂糖凝胶切块，添加 300 μ l 的 ADB 缓冲液。加热之后添加 100 μ l 的水。

4. 将溶解的琼脂糖切块溶液放到 **1 号柱** 中并把柱套在 **收集管** 里。

5. 离心 1 分钟。去除滤出液。

Note: 柱所能容纳的样品体积为 800 μ l。所以，如果样品体积超过 800 μ l 时，柱就要被多次填充和离心。

6. 添加 200 μ l 的 **DNA 洗涤液** 到柱中离心 1 分钟，去除滤出液。

7. 重复第 6 步洗涤步骤。

8. **可选步骤:** 将收集管中的废液倒掉，并将 **1 号柱**套回收集管中额外离心 2 分钟，尽量除去洗涤液，以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。

9. 直接添加 10 μ l DNA 洗脱液到柱基质中。将柱套在 1.5 ml 离心管中离心 1 分钟来洗脱 DNA。

Note: 从柱中洗脱出的 DNA 产量与 pH 和温度有关。如果使用水来洗脱，确保 pH 是 >6.0。在向柱中加入水后静置 1 分钟可增加较大 (> 6 kb) DNA 的产量。在 60-70°C 的水中洗脱 DNA 可增加较大 DNA (> 10 kb)的产量

Note: 如果试验需要的话 TE 缓冲液 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) 或改进的 TE (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.5) 也可用来洗脱。

在水中得到的超纯 DNA 可进行后续试验。